DI UN CASO SPECIALE

DI

FERMENTAZIONE ALCOOLICA

PER

A. SOBRERO

STAMPERIA REALE
DI G. B. PARAVIA E C.
1874.

DI UN CASO SPECIALE

DI

FERMENTAZIONE ALCOOLICA

PER

A. SOBRERO

STAMPERIA REALE
DI G. B. PARAVIA E C.
1874.

Estr. dagli *Atti della Reale Accademia delle Scienze di Torino*, Vol. IX.
Adunanza del 26 Aprile

DI UN CASO SPECIALE

DI

FERMENTAZIONE ALCOOLICA

Una soluzione acquosa di glucosia, a cui si aggiunga alquanto di un sale inorganico, quando questo non preesista nell'acqua impiegata, quindi un po' di una materia organica azotata, come albumina o gelatina, esposta all'aria ed in un ambiente di cui la temperatura sia di + 15° a + 30°, dopo qualche tempo entra in un movimento intestino, che si rivela dallo svolgimento in seno ad esso di numerose bollicine gasose che sono d'acido carbonico, e dallo intorbidarsi del liquido stesso per formazione di un nuovo prodotto, in parte solubile, in parte insolubile nell'acqua, che prende il nome di *levure de bière*, o lievito di birra. Frattanto lo zucchero scompare nel liquido, ed in sua vece si trova una frazione del suo peso rappresentata dall'alcool. Lo zucchero si è sdoppiato quasi interamente in alcool ed acido carbonico. Questo è il fatto che si presenta nella fermentazione del mosto delle uve nella vinificazione, nella conversione del sugo delle mele in sidro, nella fabbricazione della birra, ed in tutte quelle fermentazioni che dalla produzione dell'alcool che le accompagna presero il nome di fermentazioni alcooliche.

A spiegare questo singolare modo di sdoppiamento dello zucchero si applicarono in ogni tempo i chimici, e varie furono le teorie che emersero dai loro studi e dalle loro investigazioni esperimentali. Sarebbe qui inopportuno il riferire le diverse opinioni emesse in varii tempi cominciando da Van Helmont e Stahl, e venendo a questi ultimi giorni, nei quali ancora non sono composte le liti a cui diede origine la teoria delle fermentazioni. Sarà tuttavia opportuno il rammentare che una delle condizioni che accompagnano costantemente la fermentazione alcoolica dei liquidi espressi dai frutti zuccherini, è il contatto dell'aria con essi liquidi. Già Lavoisier avea emessa l'opinione che l'ossigeno dell'aria era indispensabile a determinare la fermentazione, la quale tuttavia una volta iniziata non esige più l'influenza di questo materiale atmosferico. Il mosto d'uva od altro succo zuccherino non fermenta, se nel prepararlo si evitò che esso venga tocco dall'aria, e si conservi in vaso chiuso, od in atmosfera di gas idrogeno o d'acido carbonico. Per l'incontro un po' d'aria che venga a toccarlo, dà immediata spinta alla fermentazione. Ciò osservava Gay-Lussac fin dal 1810. Alcuni fatti recenti osservati nella vinificazione sarebbero in armonia coll'idea della influenza dell'ossigeno nel promuovere la fermentazione: il mosto d'uva quando si agita per parecchie ore all'aria, fermenta assai più prontamente che quando si lascia in riposo: su questo fatto si fonda la fabbricazione del vino che dai francesi fu detto *Vin de Pelle*, nella quale il prodotto della pigiatura delle uve per più ore si agita in contatto dell'aria col mezzo di una pala, con che ottiensi una più pronta vinificazione, e secondo alcuni un vino di qualità più pregevole. Era naturale che essendo l'ossigeno il principale agente di tutte

le influenze chimiche dell'atmosfera, a lui si attribuisse l'impulso dato ai liquidi zuccherini, che quindi entrano in fermentazione. Questa teoria fu in questi ultimi anni fortemente combattuta da un chiarissimo chimico francese, il Pasteur, il quale, appoggiandosi a numerose esperienze da lui istituite, venne a ripudiare il concetto primitivo di una ossidazione come causa della fermentazione alcoolica. Esaminando l'aria, vi rinvenne corpicciuoli minutissimi, che sono sporale di una crittogama, la quale poichè si svolge nella fermentazione del vino egli chiamò *Mycoderma-Vini*. Questi germi trovansi in gran copia nell'aria, e si rinvengono nel così detto limo atmosferico. Le buccie dell'uva al tempo della vendemmia ne sono coperte: l'aria in quell'epoca ne abbonda più che mai. Se questi germi vengono a mescolarsi col mosto, vi determinano la fermentazione; essi si svolgono, si nutriscono a spese della materia azotata e formano quel sedimento che prende poi il nome di fermento del vino. In altre parole, l'aria è necessaria non per l'ossigeno che essa contiene, ma pei germi del mycoderma che vi stanno sospesi. Se questi o si tolgono meccanicamente con filtrazione dell'aria, o si distruggono col calore, od in altro modo si uccidono, l'aria benchè contenga l'ossigeno suo normale non promuove più la fermentazione, tuttochè siansi riunite tutte le altre condizioni che sono necessarie perchè un liquido zuccherino possa fermentare. Una soluzione di zucchero, contenuto in campana sul mercurio, non fermenta se vi si introduce ossigeno puro: qualche bollicina d'aria vi induce sollecitamente il moto di fermentazione.

Non istarò a riferire le molte ed ingegnose esperienze del Pasteur, colle quali egli appoggiò e difese la sua

teoria, la quale abbracciò non solo la fermentazione alcoolica, ma eziandio l'acetica, la lattica, la putrida ecc., ponendo così come norma generale che nissuna fermentazione sia possibile senza germi di pianticelle crittogamiche o di vibrioni, il cui svolgersi e moltiplicarsi è cagione delle alterazioni alle quali soggiacciono le materie fermentescibili. Dirò tuttavia che un potente oppositore si ebbe la dottrina del Pasteur in seno all'Accademia di Parigi nel suo collega Fremy, il quale non ammette la necessità dei germi venuti dall'esterno, ma pensa che nei frutti, nei semi delle piante esistano certi materiali che egli chiama semi-organizzati (*matières hémi-organisées*), le quali in circostanze opportune possono fare l'ufficio di fermenti. Fu pure la teoria di Pasteur combattuta dal Liebig, il quale pochi mesi prima che morisse, ancora entrò in campo sostenendo le idee già da lui molto tempo innanzi patrocinate, che la fermentazione alcoolica non fosse che effetto di una spinta comunicata da una sostanza azotata in via di spontanea decomposizione, alla sostanza fermentescibile, che nel caso della fermentazione alcoolica sarebbe la glucosia, onde questa è come trascinata a sua volta a scomporsi. La lite non è ancora terminata, e forse ancora durerà lungo tempo. Imperciocchè i fenomeni complessi, che i chimici comprendono sotto questo nome di fermentazioni, sono lontani da presentare i caratteri che ne formino una famiglia naturale, mi si permetta questa espressione, onde il modo col quale si determinano e col quale progrediscono non è per tutte il medesimo: ed inoltre le circostanze nelle quali essi si mostrano sono abbastanza complesse, perchè difficile riesca il discernere quale sia il movente necessario che immediatamente ne è la cagione.

In tale stato di cose, il più segnalato servizio che puossi fare alla scienza è il raccogliere fatti, e precisarne le circostanze ed i risultamenti: e quando una numerosa schiera dei medesimi, varii di forma, ma identici pel risultamento, sieno a puntino conosciuti, allora sarà tempo di stabilire una teoria che potrassi dire la vera.

Per queste considerazioni io credo non inutile il dire di alcuni fatti da me osservati in questi ultimi tempi, e nei quali la fermentazione alcoolica si produce in circostanze speciali, diverse assai da quelle che si avverano comunemente nella produzione dei liquidi alcoolici.

Il primo pensiero delle sperienze di cui intendo ragionare mi nacque considerando la mutazione a cui soggiacciono le mele nella preparazione a cui esse si sottopongono per convertirle nella così detta *composta.* Questa preparazione è per quanto io mi penso esclusiva a noi abitatori dell'alta Italia. Nel lungo soggiorno che feci in Francia non vidi mai in commercio mele in composta, nè mai udii farne parola. Credo che come in Francia così in Germania, nel Belgio, in Inghilterra sia tale preparazione sconosciuta.

Per preparare la composta di mele, si scelgono questi frutti i più sani che sia possibile, non contusi, non bucherati dal verme, aventi ancora il peduncolo, in una parola, in perfetto stato di integrità. Si preferiscono le mele che più hanno la pelle soda e dura, quali sono le cortipendole, le *Reinette* grigie. Altre mele a pelle più sottile meno si acconciano per tal uso, perciocchè facilmente si screpolano durante la loro preparazione. Nell'autunno si pongono le mele con precauzione entro un tino, poi sovr'esse si versa dell'acqua finchè ne siano coperte, poscia sulla carica si pongono dei graspi d'uva

usciti dal torchio, quindi una tavola o coperchio di legno, che si fissa con una grossa pietra, e ciò al fine di far sì che le mele non escano dall'acqua, e non vengano in contatto dell'aria. Il tino tiensi in una cantina, dove la temperatura non scenda mai al gelo. Alla primavera queste mele si estraggono e si pongono in vendita. Esse sono gratissimo alimento. È facile lo scorgere che la natura di questi frutti è profondamente cangiata. Essi sono diventati molto meno densi che l'acqua, e la loro pelle è distesa evidentemente per gas raccolto. Romponsi essi con facilità, e gli involucri loro facilmente si distaccano dal sottostante parenchima, che è diventato molle, spugnoso, tenero, senza coesione; si direbbe che le pareti delle cellule, onde questo è costituito, sono sfiancate e rotte. Il sapore delle mele così mutate è assai diverso dal loro primitivo: esse non hanno più segno di dolcezza, ma hanno un legger gusto acidetto: esse sono inoltre assai più facili a smaltirsi dallo stomaco, sicchè persone che non oserebbero mangiare una mela cruda, ne mangiano parecchie compostite senza soffrirne altro che qualche eruttazione di gas, in gran parte acido carbonico.

Noto qui particolarmente che allorquando le mele si rompono durante la loro immersione, esse si guastano prontamente, come si guastano quelle che soffersero ferite o morso di vermi roditori.

Considerando le condizioni nelle quali si effettuano queste mutazioni nelle mele, e cercando di darmene ragione, fui indotto a congetturare che si trattasse qui di una vera fermentazione alcoolica. A questo pensiero mi conduceva, oltre alle mutazioni avvenute nelle mele, il loro soggiorno in un liquido su cui stanno vinaccie capaci di fermentazione vinosa; nè mi pareva impossibile

che dal fermentare di queste si inducesse anche un movimento di fermentazione nell'interno dei frutti. A controllare questo concetto procedetti già nell'anno scorso ad un esperimento, in cui si eliminasse ogni fermentazione esterna. Presi quindi delle mele e le posi in una alberella, e sopra vi versai dell'acqua comune: lasciai l'alberella per più di un mese in esperienza: se non che per accidenti sopravvenuti, non potei raccogliere altro da questo tentativo, se non che le mele non hanno mestieri di essere immerse in un liquido fermentante per convertirsi in composta.

In quest'inverno ritornai sull'argomento, ed operai come segue. Presi delle mele *Reinette* di ottima qualità e sanissime, e postele in un' alberella vi versai sopra dell'acqua distillata, che avea preventivamente fatta bollire, e che si era lasciata raffreddare in vaso chiuso. L'alberella si chiuse immediatamente e si abbandonò a sè nel laboratorio, in cui si mantenne quasi costante una temperatura di $+15°$ a $+16°$. Dopo di un mese potei verificare che le mele eransi convertite in composta eccellente.

Noto che durante l'esperienza il liquido si mantenne sempre limpido, ed era attraversato da gallozzole d'acido carbonico che uscivano dai pori degli involucri dei frutti. — Volli allora verificare se veramente i frutti avessero subita la fermentazione alcoolica; nè ciò fu difficile, giacchè col distillare tre di quelle mele spappolate con acqua distillata ne ricavai parecchi centimetri cubici di liquido, in cui il sapore, l'odore, e la reazione accennata dal Lieben (produzione di iodoformio quando si scalda un liquido alcoolico a cui siasi aggiunto alquanto iodio e qualche goccia di soluzione di soda caustica) non lasciarono dubbia la presenza dell'alcool. Ho pure verificato

che il gas contenuto nel parenchima dei frutti era acido carbonico, scaldando quelli in un pallone in cui faceasi passare una corrente di idrogeno, e conducendo il gas uscito dal pallone a gorgogliare nell'acqua di calce, che si intorbidò per formazione di carbonato. Adunque in seno alle mele, isolate dagli agenti esterni, circondate da acqua pura e disaerata, si sviluppò la fermentazione alcoolica, e però in circostanze sommamente distanti da quelle che determinano ed accompagnano per lo più la fermentazione dei liquidi zuccherini.

Ora fa circa un mese comunicai tale risultamento all'Accademia di Agricoltura, esponendo i miei dubbii sulla possibilità di spiegare tale fermentazione colla teoria dei germi atmosferici creduti indispensabili dal PASTEUR; annunziai tuttavia che io avea in corso altre esperienze delle quali non potea ancora dire quale fosse l'esito finale. Questi nuovi tentativi furono condotti a termine, ed ecco ciò che ne risulta.

L'uva, le pere (*martin sec*), gli aranci, i limoni soffrono fermentazione alcoolica come le mele, nelle medesime circostanze.

Nel principio del mese di marzo scorso, ho presa dell'uva moscata bianca benissimo conservata; e mi assicurai che gli acini non si staccassero dal loro peduncolo. La lavai accuratamente con acqua distillata e bollita, poi l'immersi in un' alberella piena fino all'orlo d'acqua distillata, bollita prima e raffreddata fuori del contatto dell'aria. Chiusa l'alberella la abbandonai a sè nel laboratorio ad una temperatura media di $+15°$ a $+18°$. Pochi giorni dopo osservai esalarsi dagli acini abbondante acido carbonico. Questo svolgimento durò per 20 giorni incirca. Il liquido si mantenne costantemente limpido:

nissuna crittogama, almeno apparente, vi si produsse. Spirati i 20 giorni estrassi l'uva, ne espressi rapidamente il succo e questo sottoposi alla distillazione, la quale mi somministrò parecchi centimetri cubici di liquido in cui si riconobbe notevole quantità d'alcool.

Le pere martine (*martin sec*) sottoposte al medesimo saggio, diedero pure gran copia d'acido carbonico. Non potei in esse verificare ben manifesta la mutazione così rimarchevole a cui vanno soggette le mele: credo aver troppo sollecitamente troncato il corso dell'esperienza, atteso che il parenchima di tal varietà di pere è assai più fitto che non è quello delle mele. Il liquido circostante si mantenne limpido, tanto che il vaso rimase chiuso; trovai in esso molto alcool: evidentemente questo prodotto della fermentazione era passato dall'interno dei frutti per exosmosi nel liquido circostante. È qui il luogo di notare, che l'acqua distillata in cui avevano fermentato le mele e l'uva, oltre all'essere satura d'acido carbonico, conteneva pure un buon dato d'alcool.

Ad egual saggio sottoposi aranci e limoni. In questi la fermentazione alcoolica si produsse egualmente come negli altri frutti, e nell'interno loro si verificò la presenza dell'alcool, come si osservò l'esalazione d'acido carbonico. Se non che il liquido in cui questi frutti rimanevano immersi, dopo alcuni giorni si mostrò torbido senza tuttavia mostrare indizio di movimento fermentativo. Credo poter attribuire l'accennato intorbidamento alla mescolanza che in esso dovette farsi di materie fornite dalla scorza dei frutti posti in esperienza.

Fin qui il risultamento delle mie esperienze. Ora se volessimo far passo a spiegare questi fatti di fermentazione alcoolica, ponendoli in armonia colla teoria di Pasteur, vi troveremmo non poche difficoltà.

I germi della crittogama che determina la fermentazione alcoolica stanno nell'aria, o stanno aderenti alla buccia dei frutti che forniscono i sughi che fermentano di fermentazione vinosa. Questi germi furono essi allontanati od evitati nel nostro modo di operare? Le lavature dei frutti con acqua distillata, bollita, e raffreddata senza il contatto dell'aria, e la loro sollecita immersione in acqua parimente distillata e disaerata tendeva a questo scopo: debbo tuttavia confessare che nelle eseguite manipolazioni per stabilire le esperienze, l'acqua ed i frutti poterono toccar l'aria per qualche istante e toglierne germi di fermento. In ulteriori esperienze, alle quali porgeranno materia i nuovi frutti che la magnifica attuale primavera ci promette abbondanti, non sarà impossibile disporre le cose per modo che questa cagione di errore sia evitata. Ma supponiamo ancora che i germi del fermento si trovassero, certo in minima proporzione, nell'acqua in cui stavano immersi i frutti, come possiamo spiegarci che essi germi sieno stata cagione della fermentazione avvenuta nei frutti? Converrebbe supporre che essi, nuotanti nell'acqua, abbiano potuto penetrare attraverso agli integumenti dei frutti, e poi agli involucri delle cellule in cui gli umori saccariferi si contengono, perchè poi determinassero la trasformazione dello zucchero in alcool ed in acido carbonico. A questa spiegazione si oppone la costituzione dei germi anzidetti, che sono esseri organizzati, che non passano attraverso ai corpi porosi, che sospesi in un liquido si arrestano e se ne separano colla filtrazione: per supporre la possibilità del loro passaggio dall'esterno all'interno dei frutti, dovrebbesi ammettere in essi la costituzione di corpi liquidi o gasosi, il che non è. — Ad ogni modo se la cosa stesse in tali

termini dovrebbe trovarsi il fermento formato nell'interno dei frutti fermentati quando questi si sottoponessero ad esame microscopico. Confesso non aver potuto procedere a tale esame. Se non che è da dubitarsi che nell'interno dei frutti si svolga fermento in una fermentazione condotta come il fu nelle addotte esperienze.

È qui da rammentarsi che nel 1872 i signori Lecartier e Bellamy presentarono all'Accademia delle Scienze di Parigi una Memoria nella quale essi riferiscono, che frutti d'ogni ragione tenuti in una atmosfera di gas ossigeno, continuano come nell'aria atmosferica a respirare con esalazione d'acido carbonico. Essi osservarono che la proporzione dell'acido carbonico sviluppata è superiore in volume a quella dell'ossigeno assorbito; del che cercando la spiegazione trovarono che nei frutti era scomparso parzialmente lo zucchero che si trovava sostituito da alcool. Aggiungerò che i medesimi osservatori investigando l'interno dei frutti così modificati non vi rinvennero traccia di crittogama analoga al mycoderma del vino, se non quando i frutti non aveano conservata l'integrità dei loro involucri.

Queste esperienze tuttochè diverse nella forma, collimerebbero tuttavia con quelle da me istituite, in quanto che negli umori zuccherini, ai quali non potrebbero pervenire i germi del mycoderma forniti dall'atmosfera, può tuttavia, mutandosi il mezzo in cui i frutti si conservano, avverarsi la fermentazione alcoolica.

E questo fatto verrebbe pure comprovato da esperimenti del medesimo Pasteur, che osservò la fermentazione alcoolica nei frutti integri e sani, quando si tengono immersi in un' atmosfera di gas acido carbonico.

Nelle esperienze da me eseguite i frutti trovansi, come

in quelle di PASTEUR e nelle altre di LECARTIER e BELLAMY in condizioni assai diverse dalla loro normale, e sono circondati da un mezzo che non può conciliarsi con quel resto di vita che costituisce il fatto della loro maturazione: alle azioni vitali di respirazione, sottentra un'altra che pare essere intermedia alle azioni puramente chimiche ed alle azioni della vita. Allora si mostra la fermentazione. Quale sarà l'agente di questa? Lo stesso PASTEUR rammenta che nei frutti fermentati nell'acido carbonico non si rinvengono corpi da paragonarsi al mycoderma del vino o della birra. Adunque il mycoderma non è necessario. Il FREMY cogliendo la palla al balzo, veniva appunto a dar questa decisiva risposta al PASTEUR strenuo propugnatore dei mycodermi, nella adunanza del 7 ottobre 1872. Se non che il FREMY in altra comunicazione andò più oltre, ed appoggiandosi alle sue osservazioni asserì che nei frutti integri fermentati, se il microscopio non isvela il mycoderma del vino ben caratterizzato, vi mostra tuttavia corpi analoghi ai fermenti. Egli mantiene la sua opinione che nei frutti si contengano sostanze, che egli chiama *hémi-organisées*, le quali in circostanze opportune possono far l'ufficio di fermenti. Se ciò fosse, la spiegazione delle fermentazioni dei frutti interi non avrebbe difficoltà, e sarebbe provato che la fermentazione alcoolica può anche prodursi senza l'intervento di germi di mycoderma che vengono somministrati dall'atmosfera. Come si scorge, la questione è assai complessa ancora e non risolta. L'opinione del FREMY tocca da vicino una teoria che già anticamente dibattuta nuovamente si agita dagli scienziati; quella della generazione spontanea.

Non è troppo facile il concepire una sostanza semi-

organizzata da cui nascano i fermenti, se questi, come pare, sono esseri organizzati e viventi. Ma il FREMY non disse aver osservati veri fermenti nei frutti integri fermentati nell'acido carbonico. PASTEUR non rinvenne traccia di fermenti; non ne rinvennero i signori LECARTIER e BELLAMY che nei frutti che s'erano rotti. In tale incertezza di fatti, io credo poter ripetere che la teoria della fermentazione in genere, ed anche della fermentazione alcoolica soltanto, è ancora incerta assai, e che solo essa potrassi fondare su basi sicure quando i fatti già conosciuti siansi ripetuti, e nuovi fatti siensi accumulati da abili e coscienziosi sperimentatori. Questo pensiero è quello che mi ha spinto a comunicarvi i risultamenti delle esperienze surriferite, alle quali spero farne succedere altre che ne sieno il complemento.

